VISIT…

LANZAROTE Caliente.COM

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path. 260, 26—49 (1968)

Die Wirkung von 11 Indol-Alkaloiden auf das Meerschweinchen-Herz in vivo und in vitro, verglichen mit 2 synthetischen Azepinoindolen, Chinidin und Quindonium

G. Zetler, E. Lenschow und W. Prenger-Berninghoff

Institut für Pharmakologie der Medizinischen Akademie Lübeck
(Direktor: Prof. Dr. G. Zetler)

Eingegangen am 1. Dezember 1967

The Action of 11 Indole Alkaloids on the Guinea-Pig Heart in vivo and in vitro, Compared with Those of 2 Synthetic Azepinoindoles, Quinidine and Quindonium

Summary. Eleven indole-alkaloids from *Tabernanthe Iboga Baillon, Conopharyngia durissima Stapf* and *Voacanga africana Stapf (Apocynaceae),* harmane and harmine, two synthetic azepinoindoles, quinidine and quindonium produced in anaesthetized guinea-pigs a bradycardia which was resistant against vagotomy and atropine. Harmine and tabernanthine were the most active compounds. All substances except quinidine caused no or only minor disturbances of the electrocardiogram even if strong bradycardia was elicited. Blood pressure was raised by the azepinoindoles and by quindonium, and lowered by all other substances.

On the spontaneously beating isolated guinea-pig atrium, all drugs had negativ chronotropic activity. In the electrically driven isolated left atrium, all compounds with the exception of quindonium diminished the force of contraction. Harmine and tabernanthine were also in the isolated preparations the most active drugs. The comparison of chronotropic with inotropic activities revealed that all substances had high affinities for the pacemaker tissue.

The consideration of relationships between chemical structure and pharmacological activity lead to the following conclusions:

a) the *negativ chronotropic* activity of all indole-derivatives is increased by introduction of a *methoxy-group* into the indole nucleus;

b) in the apocynacea-alkaloids, the *indole* nucleus is the critical structure for the *chronotropic* action and the *isoquinuclidine* nucleus is the critical structure for the *inotropic* action;

c) the drug receptors in the sinus node, the conducting tissue and the myocardium are probably different.

Key-Words: Indole Alkaloids — Quinidine — Quindonium — Myocardial Depressants.

Zusammenfassung. Elf Indol-Alkaloide der *Apocynaceen Tabernanthe Iboga Baillon, Conopharyngia durissima Stapf* und *Voacanga africana Stapf,* Harman und Harmin, zwei synthetische Azepinoindole sowie Chinidin und Quindonium erzeugten beim narkotisierten Meerschweinchen eine Bradykardie, die resistent gegen Vagotomie und Atropin war. Harmin und Tabernanthin waren am wirksamsten.

Alle Substanzen außer Chinidin veränderten das EKG auch bei sehr starker Bradykardie nicht oder nur geringfügig. Die Azepinoindole und Quindonium steigerten den Blutdruck, alle anderen Substanzen senkten ihn.

Am spontan schlagenden isolierten Vorhof des Meerschweinchens wirkten alle Substanzen negativ chronotrop und am elektrisch gereizten Vorhof mit Ausnahme von Quindonium negativ inotrop. Auch hier waren Harmin und Tabernanthin am aktivsten. Der Vergleich der inotropen mit der chronotropen Wirksamkeit ergab für alle Substanzen eine hohe Affinität zum Sinusknoten.

Die Betrachtung der Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Aktivität ergab:

a) die *negativ chronotrope* Wirksamkeit aller Indol-Derivate wird durch Einführung einer *Methoxy-Gruppe* in den Indol-Teil verstärkt;

b) der *Indol*-Teil der Apocynaceen-Alkaloide ist für die *chronotrope* Wirksamkeit die kritische Struktur, der *Isochinuclidin*-Teil ist für die *inotrope* Aktivität kritisch;

c) die Pharmakon-Receptoren im Sinusknoten, im Reizleitungssystem und im Myokard sind wahrscheinlich verschieden.

Schlüsselwörter: Indol-Alkaloide — Chinidin — Quindonium — Myokard-Hemmung.

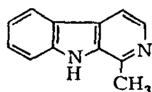
Seit einigen Jahren ist bekannt, daß Indol-Alkaloide auf das Herz wirken. Harman rief Bradycardie hervor (SCRIABINE u. HUTCHEON, 1956), Ibogain wirkte in vivo negativ ino- und chronotrop (SCHNEIDER u. RINEHART, 1957); die Wirkungen beider Substanzen waren atropinresistent. Für Voacangin wurde eine kardiotone Wirkung auf den isolierten Vorhof des Kaninchens beschrieben (LA BARRE u. GILLO, 1955a, b; LA BARRE, 1961), die jedoch weder am isolierten Herz (BLANPIN, QUEVAUVILLER u. PONTUS, 1961) noch am isolierten Meerschweinchen-Vorhof oder am isolierten Papillarmuskel der Katze (THORP u. COBBIN, 1967) reproduziert werden konnte. Alle in Tab. 1 erwähnten Alkaloide führten bei der Katze zu Bradykardie, die — soweit untersucht (Ibogalin, Iboxygain, Conopharyngin) — resistent gegen Vagotomie und Atropin war (ZETLER, 1964).

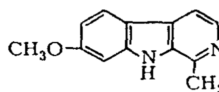
Nach diesen Befunden haben die Alkaloide wahrscheinlich eine direkte Wirkung auf das Herz, die sich auch bei Versuchen in vitro zeigen müßte; solche Versuche sind bisher aber nur mit Voacangin unternommen worden (siehe oben). Wir haben deshalb die ino- und chronotrope Wirkung der nachstehenden Substanzen am isolierten Vorhof des Meerschweinchens untersucht, nachdem wir zuvor die Wirksamkeit am intakten Meerschweinchen quantitativ bestimmt und hinsichtlich ihrer Beeinflussung durch Atropin und Vagotomie geprüft hatten.

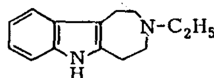
Die Substanzen der Tab. 1 sind Alkaloide der afrikanischen *Apocynaceen Tabernanthe Iboga Baillon, Conopharyngia durissima Stapf* und *Voacanga africana Stapf*, die dem Subtribus *Tabernaemontaninae* angehören (Literatur bei ZETLER, 1964). Schon bei der vorangegangenen

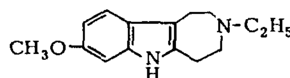
Tabelle 1. *Apocynaceen-Alkaloide*
(MG = Molekulargewicht)

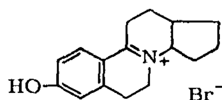
Name	R_1	R_2	R_3	R_4	MG
Ibogamin	H	H	H	H	280
Ibogain	OCH_3	H	H	H	310
Tabernanthin	H	OCH_3	H	H	310
Ibogalin	OCH_3	OCH_3	H	H	341
Iboxygain	OCH_3	H	H	OH	326
Conopharyngin	OCH_3	OCH_3	$COOCH_3$	H	399
Voacristin	OCH_3	H	$COOCH_3$	OH	385
Voacangin	OCH_3	H	$COOCH_3$	H	369
Isovoacangin	H	OCH_3	$COOCH_3$	H	369

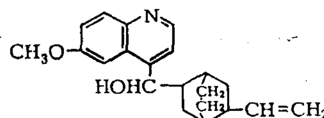

Harman (MG 254)


Harmin (MG 212)


3-Äthyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-azepino-(4,5-b)-indol (ETAI, MG 214)

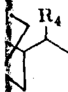

3-Äthyl-8-methoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-azepino-(4,5-b)-indol (Methoxy-ETAI, MG 244)

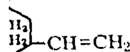

Quindonium-Bromid (MG 324)


Chinidin (MG 324)[a]

[a] Chinidinsulfat hat das Molekulargewicht 783.

Untersuchung dieser Alkaloide hatten sich Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung ergeben (Zetler, 1964). Zur weiteren Klärung dieser Beziehungen zogen wir einfachere Strukturen heran, nämlich die Alkaloide Harman und Harmin sowie die synthetischen Azepino-Indole 3-Äthyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-azepino-(4,5-b)-indol (ETAI) und 3-Äthyl-8-methoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-azepino-(4,5-b)-indol (Methoxy-ETAI). Die Azepino-Indole stehen im Hinblick auf ihre Struktur zwischen den Apocynaceen- und den Harmala-Alkaloiden.





Zum Zwecke der pharmakologischen Charakterisierung der Alkaloide untersuchten wir zwei weitere Substanzen mit atropinresistenter negativ chronotroper Wirksamkeit: Chinidin (negativ inotrop) und Quindonium (positiv inotrop; OSBORNE u. WINBURY, 1965).

Methodik

1. Versuche an narkotisierten Meerschweinchen

Männliche Tiere (Körpergewicht 573 ± 91 g) wurden mit Urethan (1,5 g/kg i.p.) narkotisiert und auf einem heizbaren Operationstisch bei normaler Körpertemperatur gehalten. Jedes Tier wurde tracheotomiert und bei starker Hemmung der Atmung über eine Trachealkanüle künstlich beatmet. Der Blutdruck wurde an einer A. carotis mit einem Hg-Manometer gemessen. Zur Ableitung des EKG in Ableitung II diente ein Hellige-Simpliscriptor mit den Papiergeschwindigkeiten 25 und 50 mm/sec. Die Dauer der einzelnen EKG-Parameter wurde mit einem Lupenlineal gemessen, ihre Veränderung wurde für jedes Tier als Differenz vom Normalwert vor der ersten Injektion ausgedrückt. Die Bildung der Mittelwerte aus diesen Zahlen ergab in den einzelnen Versuchen für jeden Parameter eine „Mittlere intraindividuelle Differenz“ $\bar{x}$ mit ihrem mittleren Fehler $\pm s_{\bar{x}}$.

Der eigentliche Versuch begann etwa 1,5 Std nach dem Beginn der Narkose, wenn die Herzfrequenz einen konstanten Wert erreicht hatte. Alle Substanzen außer Atropin wurden innerhalb von 30 sec in eine Vena jugularis injiziert. Zur Atropinisierung genügte eine i.m. Injektion von 4 mg/kg Atropin, nach welcher hohe Dosen von Acetylcholin wirkungslos waren. In jedem Versuch zur Bestimmung der Beziehung zwischen Dosis und Wirkung wurden mindestens 6 um den Faktor 2 kumulativ ansteigende Dosen gegeben.

2. Versuche an isolierten Vorhöfen des Meerschweinchens

Als Versuchstiere dienten männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von etwa 250 g. Die Tiere wurden durch einen Nackenschlag betäubt, die Herzen sofort entnommen, und die Vorhöfe in O_2 durchperlter Krebs-Henseleit-Lösung präpariert. Diese Lösung, in der die Vorhöfe auch suspendiert wurden, enthielt im Liter 6,87 g NaCl, 0,43 g KCl, 0,28 g $CaCl_2$, 0,14 g $MgSO_4$, 0,14 g NaH_2PO_4, 2,10 g $NaHCO_3$ und 1,0 g Dextrose, sie wurde in einem Wasserbad auf 31,5° C gehalten und mit einem Gemisch aus 95% O_2 und 5% CO_2 durchperlt. Das Organbad faßte ein Volumen von 10 ml.

Für die Versuche zur Beeinflussung der Schrittmachertätigkeit wurden beide spontan schlagenden Vorhöfe durch Befestigung an Basis und Spitze des linken Atriums so suspendiert, daß kein Zug am Sinusknoten auftrat. In den Versuchen zur inotropen Wirkung wurde der rechte Vorhof abgetrennt und nur der linke suspendiert und elektrisch gereizt. Beide Präparate wurden in der Nährlösung an einem Plexiglashaken und oberhalb des Bades an einem Dehnungsmeßstreifen mit einer Spannung von 0,5 g befestigt. Über geeignete Verstärker wurden die Kontraktionen der Vorhöfe von einem Schreibgerät der Fa. Hellige aufgezeichnet. Zur elektrischen Reizung dienten Platinelektroden, die den Vorhof im Abstand von etwa 4 mm berührten sowie ein Grass-Stimulator SD-5. Die Parameter der Reizung waren: 3 Rechteck-Impulse pro sec, Einzelreizdauer von 2 msec und eine Reizspannung, die 30% über dem Schwellenwert lag. Als Schwellenwert galt die geringste Spannung, die zu einer regelmäßigen Kontraktion nach jedem Einzelreiz führte; die mittlere Reizspannung war etwa 2,0 V.

Der eigentliche Versuch begann, wenn sich das Präparat auf einen konstanten Wert eingestellt hatte. Bei den spontan schlagenden Vorhöfen dauerte es bis zu

1,5 Std bis sich die Frequenz innerhalb von 10 min um nicht mehr als ± 2 Schläge pro Minute änderte. Der linke, elektrisch gereizte Vorhof lieferte bereits nach etwa 30 min konstante Werte, die sich innerhalb von 10 min um nicht mehr als $\pm 10\%$ änderten. In jedem Versuch wurden 5—6 kumulativ ansteigende Dosen gegeben. Die kumulative Dosierung war nötig, weil es je 15—30 min dauerte, bis die Wirkung einer einzelnen Dosis der Indol-Verbindungen eine gleichbleibende Stärke erreichte und nach dem Erneuern der Suspensionslösung wieder verschwand. Zwischen zwei Dosierungsschritten lagen mindestens 20—30 min, die Suspensionslösung wurde unter Erhaltung der vorhandenen Pharmakon-Konzentration bei dem spontan schlagenden Vorhof alle 10 min, bei dem elektrisch gereizten alle 20 min erneuert. Die eintretenden Wirkungen wurden in Prozenten des jeweiligen Ausgangswertes ausgedrückt. Als Ausgangswerte galten in den Versuchen zur chronotropen Wirkung die spontane Frequenz und in den Versuchen zur inotropen Wirkung die Höhe der Kontraktionsamplitude, in beiden Fällen unmittelbar vor der ersten Gabe des Pharmakons gemessen.

3. *Biometrie*

In allen Versuchen mit Ausnahme derjenigen zur inotropen Wirksamkeit des Ibogalins bestand eine befriedigende Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis oder Konzentration, so daß Regressionslinien berechnet werden konnten. Jede Regressionslinie umfaßt 5—7 Punkte und beruht auf mindestens 5 Versuchen. Die Verfahren zur Berechnung und Prüfung des parallelen Verlaufes der Regressionslinien sowie zur Berechnung bestimmter Effektivdosen und ihrer Vertrauensgrenzen an Hand der Regressionsgleichungen finden sich bei Linder (1964).

Die Mittelwerte der Differenzen der EKG-Parameter von den normalen Ausgangswerten wurden mit Hilfe des t-Testes hinsichtlich einer Abweichung von Null geprüft. Zu allen errechneten Mittelwerten $\bar{x}$ sind deren mittlere Fehler $\pm s_{\bar{x}}$ mit angegeben. Bei allen Vergleichen von Mittelwerten oder der Überprüfung der intraindividuellen Differenzen wurde die Nullhypothese verworfen, wenn $P < 0{,}05$ war.

4. *Substanzen*

Alle Substanzen außer Harmin-Hydrochlorid, Chinidinsulfat, Quindonium-bromid und Atropinsulfat lagen als Basen vor; sie wurden in $0{,}9\%$iger NaCl-Lösung mit Hilfe von 0,5 N HCl und im Falle von Voacangin und Isovoacangin von 0,5 N H_2SO_4 gelöst. Danach wurde mit 0,5 N NaOH so weit wie möglich neutralisiert. Harman, Atropin und Chinidin waren Produkte des Handels. Harmin wurde von der E. Merck A.G./Darmstadt zur Verfügung gestellt. Die Apocynaceen-Alkaloide, 3-Äthyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-azepino-(4.5-b)-indol (ETAI) und die entsprechende 8-Methoxy-Verbindung (Methoxy-ETAI) verdanken wir der J. R. Geigy A.G./Basel. Quindonium-Bromid erhielten wir von dem Warner-Lambert Research Institute, Morris Plains, New Jersey. Diesen Firmen sei für ihr Entgegenkommen bestens gedankt.

Ergebnisse

1. *Versuche an narkotisierten Meerschweinchen*

a) Einfluß auf die Herzfrequenz. Bei 82 Tieren betrug die normale Herzfrequenz ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) 317 $\pm$ 32 Schläge pro Minute und lag damit in dem von anderen Autoren beobachteten Bereich (siehe Tab. 3).

Alle untersuchten Substanzen führten zu einer Bradykardie, die aber nur im Falle von Chinidin so schnell verschwand, daß nach den einzelnen ansteigenden Dosen immer die Rückkehr zur Norm hätte abgewartet werden können. Sogar nach schwachen Dosen der anderen Substanzen bildete sich die Bradykardie so

langsam zurück (Abb. 1 und 4), daß wir aus Gründen der Praktikabilität versuchten, mit Hilfe der kumulativen Dosierung diesen störenden Zeitfaktor zu überwinden. Abb. 2 zeigt, daß bei genügend kurzen Intervallen zwischen den einzelnen Injektionen die Vorgänge der Elimination so weit an Einfluß verlieren, daß eine „glatte" Dosis-Wirkungskurve resultiert. Auf Grund solcher Vorversuche injizierten wir weiterhin kumulierende Dosen alle 3 min und bestimmten die Herz-

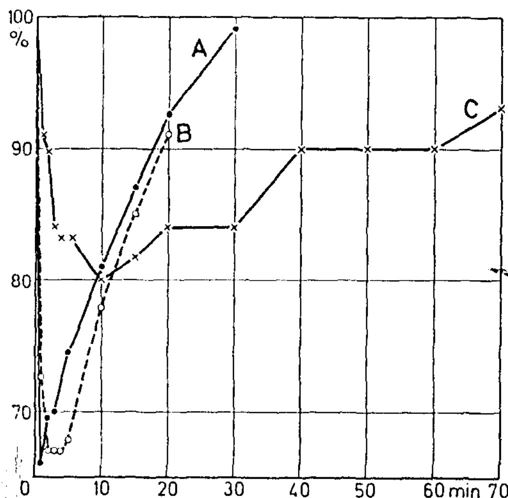


Abb. 1. Wirkung einer intravenösen Injektion von Ibogamin (10 μMol/kg, $n = 2$, Kurve A), Tabernanthin (2,5 μMol/kg, $n = 3$, Kurve B) und Ibogalin (2 μMol/kg, $n = 4$, Kurve C) auf die Herzfrequenz des narkotisierten Meerschweinchens. Ordinate: Verhalten der Herzfrequenz, die Ausgangswerte sind gleich 100% gesetzt. Abszisse: Zeit nach Injektion in Minuten

frequenz immer 2 min nach jeder Injektion. Es ist uns klar, daß Einwände gegen dieses Verfahren möglich sind, das Unterschiede in der Pharmakokinetik nicht berücksichtigt; durch die schnelle Kumulation wird zwar die Elimination praktisch wirkungslos, es bleibt aber bei manchen Substanzen — z. B. Ibogalin (vgl. Abb. 1) — zu wenig Zeit bis zur vollen Wirkung der einzelnen Dosis. Aus folgenden Gründen halten wir das Verfahren der schnell kumulierenden Dosierung in unserem Falle für anwendbar: 1. alle Substanzen lieferten lineare Dosis-Wirkungskurven (vgl. Abb. 3); 2. alle Dosis-Wirkungslinien liefen parallel mit Ausnahme der Chinidinlinie (Abb. 3), deren nicht-paralleler Verlauf für $P < 0{,}02$ statistisch signifikant war; 3. die Rückschlüsse auf Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirksamkeit, die aus diesen Versuchen gezogen werden konnten, waren identisch mit denjenigen auf Grund der Versuche am isolierten Meerschweinchenvorhof.

Die Resultate dieser Versuche sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Um die Substanzen hinsichtlich ihrer Wirkungsstärke vergleichen zu können, mußte die pharmakologische Aktivität durch eine Dosis ausgedrückt werden, die eine deutliche Bradykardie auslöste. Wir wählten die Dosis,

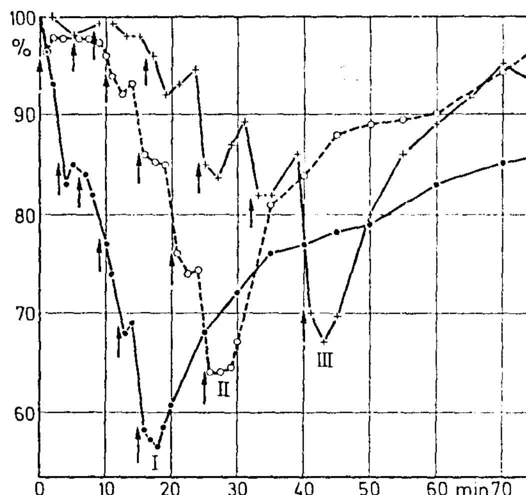


Abb. 2. Wirkung der in 6 Schritten von 1 auf 32 μMol/kg gesteigerten kumulativen Dosis von Ibogamin, wenn die einzelnen Injektionen in verschiedenen Zeitabständen gegeben wurden; die drei Kurven stammen von einem Meerschweinchen. *I:* alle 3 min, *II:* alle 5 min, *III:* alle 8 min injiziert. Die Pfeile geben die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen an. Ordinate: Verhalten der Herzfrequenz, die Ausgangswerte sind gleich 100% gesetzt. Abszisse: Zeit nach der ersten Injektion in Minuten

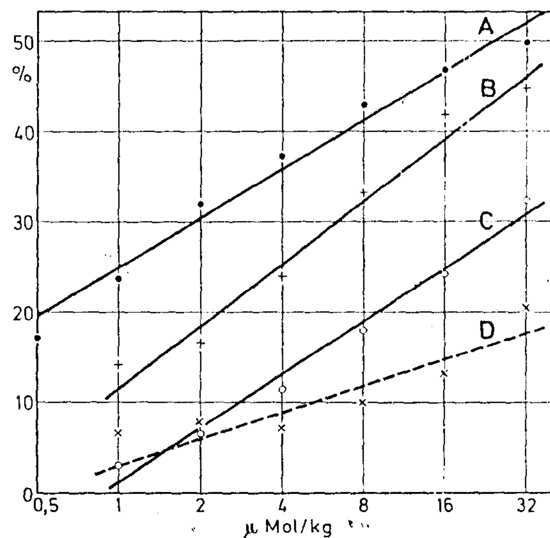
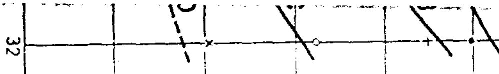


Abb. 3. Beziehungen zwischen Dosis und Wirkung von Harmin (*A*), Tabernanthin (*B*), Ibogamin (*C*) und Chinidin (*D*) auf die Herzfrequenz des narkotisierten Meerschweinchens. Jeder Punkt ist der arithmetische Mittelwert der 2 min nach Injektion gefundenen Abnahmen der Herzfrequenz. Die Geraden sind nach den in Tab. 2 aufgeführten Gleichungen berechnet. Abszisse (logarithmisch): Kumulierte Dosen der Substanzen in μMol/kg; Ordinate: Abnahme der Herzfrequenz in Prozenten der Norm



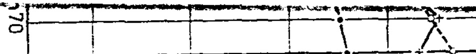


Tabelle 2. *Wirkung einiger Indol-Alkaloide und anderer Substanzen auf die Herzfrequenz des Meerschweinchens in Urethan-Narkose (kumulative i.v. Dosierung alle 3 min)*

Substanz	n [a]	Regressionsgleichung [b]	ED_{20} µMol/kg	Vertrauensgrenzen für $P = 0{,}05$ µMol/kg	Maximale Abnahme der Herzfrequenz [c] %
Ibogamin	7	$y = 19{,}6x + 1{,}3$	9,0	8,0—10,0	32
Ibogain	5	$y = 18{,}5x + 4{,}8$	6,6	6,5— 6,7	34
Tabernanthin	5	$y = 23{,}6x + 11{,}4$	2,3	2,2— 2,4	45
Ibogalin	5	$y = 30{,}0x + 4{,}6$	3,4	3,0— 3,5	53
Iboxygain	6	$y = 12{,}8x + 4{,}5$	16,2	15,0—17,0	25
Conopharyngin	5	$y = 13{,}0x - 3{,}0$	57,8	55,2—60,6	28
Voacristin	5	$y = 12{,}9x - 0{,}2$	36,6	31,3—38,4	31
Voacangin	4	$y = 15{,}8x - 4{,}8$	36,9	35,5—38,4	33
Isovoacangin	3	$y = 15{,}0x - 5{,}7$	51,6	48,1—52,9	24
Harman	5	$y = 23{,}1x + 2{,}7$	5,6	5,5— 5,7	45
Harmin	5	$y = 18{,}5x + 24{,}8$	0,6	0,0— 0,9	50
ETAI	9	$y = 16{,}7x - 7{,}7$	45,8	44,7—47,0	35
Methoxy-ETAI	5	$y = 14{,}1x + 2{,}1$	18,8	17,8—19,7	25
Chinidin	7	$y = 9{,}3x + 3{,}0$	65,4	60,4—71,2	21
Quindonium	4	$y = 15{,}6x + 13{,}5$	2,6	2,5— 2,7	42

[a] n: Anzahl der Versuche.
[b] y: Abnahme der Frequenz in Prozent der Norm; x Logarithmus der Dosis (µMol/kg i.v.).
[c] Beobachtet nach der höchsten Dosis, die von den Tieren toleriert wurde (Mittelwerte).

die eine Abnahme der Herzfrequenz um 20% bewirkte (ED_{20}). Die ED_{20} liegt sicherlich in einem weniger günstigen Bereich der Regressionslinie, sie ist aber eine Dosis, die bereits eine deutliche Bradykardie erzeugte, ohne daß toxische Nebenwirkungen auf das Herz im EKG sichtbar wurden. In dieser Hinsicht bildete freilich Chinidin eine drastische Ausnahme, denn es führte bereits nach einer kumulativen Dosis von 8 μMol/kg zu EKG-Abnormitäten, die mit höherer Dosierung zunahmen und eine Übersteigung der ED_{20} nicht gestatteten. Aber gerade Chinidin sollte ja als wohlbekannte Vergleichssubstanz dienen. Schließlich verhinderte die schlechte Löslichkeit der Indolalkaloide in vielen Fällen die Herstellung stärkerer Konzentrationen und damit eine Erhöhung der kumulativen Enddosis über 32 μMol/kg. Die ED_{20}-Werte zeigen bedeutende Unterschiede zwischen den einzelnen Substanzen; Harmin war die wirksamste Verbindung, unter den Isochinuclidin-Alkaloiden war Tabernanthin am aktivsten.

Selbst starke Bradykardien auf 40—50% der Ausgangsfrequenzen waren reversibel, obwohl die vollständige Erholung nach einigen Stoffen lange Zeit in Anspruch nahm. Nach Ibogalin und Tabernanthin dauerte die völlige Erholung von der Gesamtdosis 32 μMol/kg 2—3 Std. Die Zeiten bis zur 50%igen Rückbildung der Bradykardie, die in Tab. 4 angegeben sind, lassen keine zuverlässige Beziehung zur Stärke der Bradykardie erkennen: zwar betrug die Erholungszeit bei Chinidin (16%) 3 min, bei Bradykardien zwischen 24 und 36% 6—16 min und bei den stark wirksamen Substanzen Quindonium, Tabernanthin und Ibogalin 31, 47 und 53 min; nach Harman und Harmin verlief die Erholung jedoch viel schneller als es dem Grade der Bradykardie entsprochen hätte. Auch in der Gruppe der mäßigen Bradykardien fehlte eine strenge Abhängigkeit der Dauer von der Stärke der Wirkung; dies zeigt der Vergleich von Conopharyngin und Isovoacangin mit Iboxygain und Methoxy-ETAI, sowie derjenige dieser vier Substanzen mit ETAI.

Chinidin war zwar die am schwächsten bradykard wirkende Substanz, wies aber die stärkste toxische Wirkung auf, obwohl die Bradykardie schon nach 3—4 min auf die Hälfte abgeklungen war. Trotz künstlicher Atmung starben 5 von 9 Tieren innerhalb von 2 Std nach dem Ende der kumulativen Dosierung. Im Gegensatz dazu kam es nach den anderen Substanzen ganz selten zu Todesfällen, obwohl die hohen Dosen (32, 64, 128 μMol/kg) häufig Hemmung der Atmung und gelegentlich sogar Atemstillstand hervorriefen, so daß künstliche Beatmung nötig wurde.

Als Wirkungsmechanismus dieser Substanzen kommen direkter cholinerger oder nichtcholinerger Angriff am Schrittmacher, Erregung vagaler Zentren oder Auslösung eines Reflexes durch Reizung von Receptoren innerhalb des Herzens oder im Bereich der A. pulmonalis und A. carotis in Frage; für die indirekten Mechanismen ist die

volle Funktion des N. vagus Voraussetzung. Es war bereits bekannt, daß die negativ chronotrope Wirkung von Ibogalin, Iboxygain und Conopharyngin bei Katzen nach Vagotomie und Atropinisierung erhalten bleibt (ZETLER, 1964), und daß dies auch für Harman gilt (SCRIABINE u. HUTCHEON, 1956).

Zur Klärung des Wirkungsmechanismus haben wir nun von jeder Substanz (Isovoacangin wurde nicht geprüft, da nur wenig Material zur Verfügung stand) in mindestens zwei Versuchen je dreimal nacheinander die ED_{20} injiziert, und zwar zunächst bei intakten Vagi, dann nach Vagotomie und zuletzt nach einer zusätzlichen Gabe von 4 mg/kg

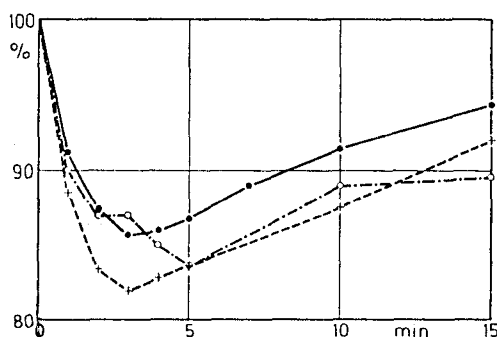


Abb. 4. Wirkung von 2 µMol/kg Tabernanthin i.v. auf die Herzfrequenz des narkotisierten Meerschweinchens. •——• ($n = 10$): bei intakten Vagi, ×---× ($n = 9$): nach Vagotomie, ○-·-○ ($n = 7$): nach 4 mg/kg Atropin sc. Abszisse: Zeit nach der Injektion in Minuten; Ordinate: Verhalten der Herzfrequenz, Ausgangswert gleich 100%

Atropin i.m. Weder Vagotomie noch Atropin beeinflußten die nach dieser Dosis nur geringe Wirkung der Alkaloide auf die Herzfrequenz wesentlich; ein Beispiel dafür gibt Abb. 4 (Tabernanthin). Die Wirkung dieser Substanzen auf das Herz ist somit direkt und nichtcholinerg.

b) Einfluß auf das Elektrokardiogramm. Die geringe Wirkung der Indol-Alkaloide auf das EKG wird sehr deutlich bei einem Vergleich mit Chinidin, das in einigen Fällen bereits nach 4 und 8 µMol/kg und meistens nach 32 µMol/kg schwere Veränderungen im EKG hervorrief wie AV-Block, AV-Ersatzsystolen, Schenkelblockähnliche Bilder und andere schwere QRS-Deformierungen.

Für den Vergleich ist wichtig, daß die EKG-Störungen durch Chinidin bereits nach Dosen auftraten, die nur eine geringe Bradykardie erzeugten; so nahm die Herzfrequenz nach 32 µMol/kg im Mittel nur um 16% ab (siehe Tab. 4), während gleiche Dosen von Ibogalin, Tabernanthin und Harmin Bradykardien von über 40% hervorriefen, ohne daß Störungen im EKG erschienen. Nennenswerte qualitative Störungen des EKG wie AV-Block, ST-Senkung, QRS-Deformierung,

negatives T und AV-Extrasystolen traten nur nach hohen Dosen (64 bis 128 μMol/kg) von Voacristin, Voacangin und ETAI auf, waren aber durchaus nicht so regelmäßig zu sehen wie nach Chinidin. Quindonium-Bromid rief bei keinem Tier trotz starker Bradykardie Störungen des EKG hervor.

Die Wirkung der Substanzen auf die Dauer der einzelnen Phasen des EKG (Tab. 4) und die absoluten Werte (Tab. 3) erlauben einen Vergleich unserer Zahlen mit denen anderer Autoren.

Tabelle 3. *Normalwerte der Herzfrequenz und der Zeitdauer der EKG-Parameter des Meerschweinchens. Die Zahlen sind die Mittelwerte $\bar{x}$ und deren mittlere Fehler $s_{\bar{x}}$. A: Ohne Narkose, 300 Tiere (Spörri, nach Grauwiler, 1965). B: Ohne Narkose, 30 Tiere (Zeman u. Wilber, 1965). C: Barbiturat-Narkose, 10 Tiere (Lombard, nach Grauwiler, 1965). D: Urethan-Narkose, 82 Tiere, unsere Resultate*

	Herzfrequenz	Parameter des EKG			
		P	PQ	QRS	QT
	Schläge/min	msec	msec	msec	msec
A	226	36,0	61	23,0	146
B	335 ± 33,3	30,0 ± 4,8	54 ± 5,9	24,0 ± 4,0	107 ± 13,2
C	260 ± 30,0		65 ± 5,0	33,0 ± 1,0	
D	317 ± 32,3	28,8 ± 4,2	52 ± 6,7	29,2 ± 4,5	109 ± 18,4

Die gute Übereinstimmung unserer Zahlen mit denen der anderen Autoren schließt einen wesentlichen Einfluß der Urethan-Narkose aus. Die längeren QT- und PQ-Zeiten im Falle von Spörri (nach Grauwiler, 1965) sind auf die wesentlich geringere Herzfrequenz zurückzuführen, die bekanntlich die Dauer dieser beiden Parameter bestimmt. Diese Tatsache ist auch bei der Beurteilung der Zahlen in der Tab. 4 im Auge zu behalten; die nach allen Substanzen verlängerte QT-Zeit ist ohne weiteres auf die Bradykardie zurückzuführen und geht mit ihr annähernd Hand in Hand. Chinidin kann auch bei dieser Art der EKG-Auswertung als Vergleichssubstanz dienen; seine hemmende Wirkung auf das Myokard führte zu einer Zunahme der Dauer aller Parameter. Eine in diesem Sinne ähnliche Wirksamkeit zeigte nur noch Ibogamin, während Ibogain nur die P-Dauer und ETAI nur die QRS-Dauer verlängerte. Die Tatsache, daß Ibogalin, Iboxygain, Conopharyngin, Voacristin und Voacangin die PQ-Zeit verlängerten, kann auf die Bradykardie zurückgeführt werden. Diese Erklärung ist aber bei Ibogalin und Voacristin quantitativ nicht befriedigend, weil hier keine Proportionalität zwischen Stärke der Bradykardie und Verlängerung der PQ-Zeit besteht. Trotz einer starken Bradykardie von über 40% beeinflußten Tabernanthin, Ibogalin, Harman, Harmin und Quindonium die Parameter des EKG nicht oder nicht

Tabelle 4. *Wirkung der kumulativ dosierten Substanzen (alle 3 min i.v. gegeben) auf die Dauer der EKG-Parameter des Meerschweinchens … sind die mittleren Differenzen zu den Ausgangswerten mit ihren mittleren Fehlern. Die Werte wurden zum … nämlich 2 min nach der letzten Injektion, im Falle …*

Tabelle 4. *Wirkung der kumulativ dosierten Substanzen (alle 3 min i.v. gegeben) auf die Dauer der EKG-Parameter des Meerschweinchens in Urethan-Narkose. Angegeben sind die mittleren Differenzen zu den Ausgangswerten mit ihren mittleren Fehlern. Die Werte wurden zum Zeitpunkt der stärksten Bradykardie nach der angegebenen maximalen Dosis abgenommen, nämlich 2 min nach der letzten Injektion, im Falle von ETAI jedoch nach 1 min. Die fett gedruckten Resultate unterscheiden sich statistisch signifikant von Null ($P < 0,05$)*

Substanz	n	Dosis	Maximale Abnahme der Herzfrequenz[a]		P	PQ	QRS	QT
		µMol/kg	%	t_{50}	msec	msec	msec	msec
Ibogamin	6	32	29	15	+ 4,5 ± 1,40	**+ 4,0 ± 1,36**	+ 3,0 ± 2,19	**+ 33,5 ± 5,53**
Ibogain	5	32	34	15	+ 3,8 ± 1,17	+ 1,8 ± 1,67	+ 1,2 ± 0,83	**+ 42,2 ± 5,56**
Tabernanthin	4	32	47	65	+ 2,0 ± 1,15	− 1,0 ± 4,21	+ 2,5 ± 2,39	**+ 43,0 ± 8,88**
Ibogalin	5	32	53	101	− 0,8 ± 2,57	**+ 6,0 ± 1,06**	+ 1,6 ± 3,88	**+ 64,6 ± 16,43**
Iboxygain	5	32	26	14	+ 3,0 ± 1,94	**+ 3,4 ± 0,87**	+ 1,8 ± 0,66	**+ 35,0 ± 4,21**
Conopharyngin	5	128	28	7	− 1,4 ± 2,04	**+ 6,0 ± 1,52**	+ 1,2 ± 1,20	**+ 38,8 ± 6,58**
Voacristin	5	128	31	11	+ 1,2 ± 2,32	**+ 18,8 ± 3,07**	+ 1,4 ± 1,36	**+ 26,5 ± 5,44**
Voacangin	4	128	33	11	+ 3,0 ± 4,73	+ 0,8 ± 1,82	− 1,0 ± 2,65	**+ 59,0 ± 8,23**
Isovoacangin	3	64	24	7	0,0 ± 2,31	− 5,3 ± 3,72	− 2,0 ± 0,0	+ 30,0 ± 0,0
Harman	5	64	45	16	+ 1,6 ± 1,72	− 0,8 ± 3,07	− 1,2 ± 1,62	**+ 16,8 ± 6,95**
Harmin	6	32	48	20	+ 2,7 ± 1,69	+ 2,7 ± 4,09	0,0 ± 0,0	**+ 26,0 ± 5,68**
ETAI	7	128	36	6	+ 3,4 ± 2,03	+ 3,4 ± 5,50	**+ 5,3 ± 2,25**	**+ 16,6 ± 6,14**
Methoxy-ETAI	5	32	25	16	+ 2,4 ± 1,60	− 1,0 ± 2,83	+ 4,0 ± 2,63	**+ 20,0 ± 3,16**
Chinidin	8	32	16	3	**+ 6,8 ± 1,69**	+ 7,5 ± 2,75	**+ 7,3 ± 1,36**	+ 17,0 ± 7,55
Quindoniumbromid	4	64	42	31	+ 0,5 ± 0,50	− 6,0 ± 2,94	0,0 ± 0,0	**+ 28,8 ± 5,16**

[a] Mittelwerte; t_{50}: Zeit in min bis zum 50%igen Rückgang der maximalen Bradykardie.

wesentlich in hemmendem Sinne, so daß im Falle der PQ-Zeit sogar von einer relativen Verkürzung gesprochen werden kann.

c) Einfluß auf den Blutdruck. Meerschweinchen in Urethannarkose haben einen sehr niedrigen Blutdruck; 92 Tiere zeigten in unseren Versuchen 90 min nach Einleitung der Narkose einen mittleren Blutdruck von 43,8 ± 10,8 mm Hg, BANNERJEE u. MOKHERJEE (nach GRAUWILER, 1965) fanden 45 ± 1,7 mm Hg. Dieser niedrige Blutdruck kann sicherlich nicht als normaler Ausgangswert für pharmakologische Versuche angesehen werden. Deshalb und wegen der meist geringen Wirkungen unserer Substanzen verzichten wir auf eine ausführliche Darstellung der Resultate.

Fast alle von uns untersuchten Substanzen senkten den Blutdruck. Die Wirkung trat unmittelbar nach der Injektion auf und verschwand meistens in weniger als 3 min, also bereits vor dem nächsten kumulativen Dosierungsschritt. Dabei bewirkten häufig erst höhere Dosen (16, 32, 64 μMol/kg) eine deutliche Abnahme, während niedrigere Dosen gelegentlich leichte Anstiege verursachten. Nach Ibogain, Ibogalin, Voacristin, Voacangin und Chinidin wurden ausschließlich Blutdrucksenkungen beobachtet; nach 32 μMol/kg Ibogalin und Chinidin fiel der Blutdruck auf minimale Werte (20 mm Hg) ab, die Erholung dauerte dabei 10—30 min. ETAI, Methoxy-ETAI und Quindonium führten nach allen Dosen zu Blutdrucksteigerungen, die im Falle von ETAI und Methoxy-ETAI nach dem Ende der kumulativen Dosierung über 30 min lang anhielten.

2. *Versuche am isolierten Vorhof des Meerschweinchens*

a) Chronotrope Wirkungen. In allen Versuchen zur chronotropen Wirksamkeit wurden die Dosen kumulativ um den Faktor 3 gesteigert, wobei der Dosierungsbereich bei der Mehrzahl der Substanzen zwischen 1,0 und 100 μMol/l lag. Die maximale Höhe der Dosierung und die Beendigung jedes Versuches wurden immer durch eine oder mehrere folgender Erscheinungen bestimmt: 1. Unregelmäßigkeiten in der Vorhoftätigkeit; 2. Spontaner Stillstand; 3. Schwäche der Kontraktionen, so daß trotz maximaler Verstärkung nicht mehr gezählt werden konnte; 4. Auskristallisierung der Substanzen, die oft schon bei Konzentrationen auftrat, in ~~denen~~ die Alkaloide in der Stammlösung (pH 6,8) noch gut löslich waren (dies ist vielleicht auf den in der Suspensionslösung höheren pH-Wert von etwa 7,4 zurückzuführen). Deshalb war es in keinem Fall möglich, die maximale Wirkung und damit nach ARIËNS (1964) die Aktivität eines Stoffes zu bestimmen. Wir mußten uns mit der jeweils erreichbaren maximalen Wirkung jeder Substanz begnügen, so daß der Ausdruck „Aktivität" im folgenden notgedrungen nur diese eingeschränkte Bedeutung hat.

Zur Charakterisierung der Affinität (ARIËNS, 1964) wurde für jede Substanz mit Hilfe der Regressionslinie die Konzentration bestimmt, die zu einer $20^0/_0$igen Abnahme der Herzfrequenz führte. Diese EC_{20} wurde statt der üblichen EC_{50} deshalb gewählt, weil die EC_{50}, wie aus Tab. 5 hervorgeht, aus den oben erwähnten Gründen nur bei einigen Stoffen erreicht und genügend weit überschritten wurde. Ein weiterer

Tabelle 5. *Negativ chronotrope Wirkung einiger Indol-Alkaloide und anderer Substanzen auf den isolierten, spontan schlagenden Meerschweinchen-Vorhof*

Tabelle 5. *Negativ chronotrope Wirkung einiger Indol-Alkaloide und anderer Substanzen auf den isolierten, spontan schlagenden Meerschweinchen-Vorhof*

Substanz	Regressionsgleichung[a]	EC_{20} µMol/l	Vertrauensgrenzen für $P = 0{,}05$ µMol/l	Maximale Abnahme der Herzfrequenz[b] %
Ibogamin	$y = 30{,}34x + 19{,}66$	1,03	0,68—1,42	78
Ibogain	$y = 23{,}26x + 26{,}30$	0,54	0,01—1,97	74
Tabernanthin	$y = 19{,}56x + 39{,}97$	0,10	0,04—0,17	67
Ibogalin	$y = 22{,}45x + 37{,}57$	0,17	0,04—0,38	70
Iboxygain	$y = 21{,}73x + 22{,}68$	0,75	0,57—0,96	66
Isovoacangin	$y = 11{,}47x + 25{,}77$	0,31	0,10—0,65	45
Conopharyngin	$y = 18{,}89x + 6{,}91$	4,93	3,50—6,62	56
Voacristin	$y = 11{,}46x + 28{,}81$	0,17	0,06—0,36	58
Voacangin	$y = 14{,}86x + 24{,}47$	0,50	0,34—0,70	50
ETAI	$y = 19{,}46x + 10{,}39$	3,12	1,37—5,56	64
Methoxy-ETAI	$y = 12{,}98x + 27{,}98$	0,24	0,11—0,45	61
Harman	$y = 14{,}78x + 29{,}49$	0,23	0,16—0,26	55
Harmin	$y = 11{,}39x + 33{,}53$	0,06	0,02—0,13	46
Chinidin	$y = 12{,}81x + 27{,}07$	0,28	0,19—0,39	47
Quindonium	$y = 15{,}71x + 23{,}58$	0,59	0,29—1,03	51

[a] *y:* Abnahme der Frequenz in Prozent der Norm; *x* Logarithmus der Konzentration (µMol/l).

[b] Beobachtet nach der höchsten Dosis, die von dem Präparat toleriert wurde (Mittelwerte).

Grund war die Notwendigkeit des quantitativen Vergleichs mit der negativ inotropen Wirkung für die wegen ähnlicher Schwierigkeiten ebenfalls nur die EC_{20} bestimmt werden konnte.

Die durchschnittliche Frequenz der spontan schlagenden Atria lag bei etwa 120/min. Alle Substanzen wirkten negativ chronotrop mit erheblichen Unterschieden in Aktivität und Affinität (Tab. 5). In jedem Fall ergab sich eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der

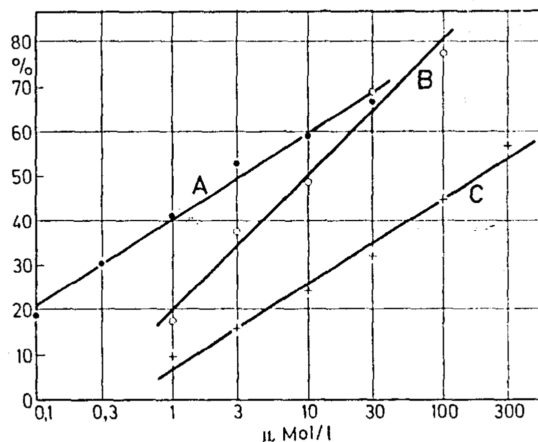


Abb. 5. Regressionslinien für die negativ chronotropen Wirkungen der Indol-Alkaloide Tabernanthin (A; $n = 6$), Ibogamin (B; $n = 5$) und Conopharyngin (C; $n = 5$). Die Punkte sind die Mittelwerte der beobachteten Wirkungen. Abszisse (logarithmisch): Konzentration in μMol/l. Ordinate: Abnahme der Frequenz in Prozent des Ausgangswertes. Die Gleichungen der Geraden finden sich in Tab. 5

Dosis und der Wirkung, so daß Regressionsgeraden berechnet werden konnten, die in Tab. 5 zusammengefaßt sind. Die Regressionskoeffizienten sämtlicher Geraden unterschieden sich statistisch nicht signifikant von dem der Tabernanthin-Linie. Drei extreme Beispiele dieser Dosis-Wirkungsgeraden bietet Abb. 5: 1. Ibogamin als die Substanz mit der stärksten erreichten Wirkung und der steilsten Regressions-Linie, 2. Conopharyngin mit der geringsten Aktivität und der schwächsten Steigung seiner Dosis-Wirkungslinie, 3. Tabernanthin wegen seiner sehr hohen Affinität, die nur noch von Harmin übertroffen wurde.

Harmin hatte die geringste EC_{20} und somit die größte Affinität, Tabernanthin war das wirksamste der untersuchten Apocynaceen-Alkaloide. Die geringste Affinität überhaupt hatte Conopharyngin; diese Substanz führte nach 300 μMol/l zunächst zu einem maximalen Frequenzabfall von etwa 56%, dann aber regelmäßig zu einem Herzstillstand, der allerdings durch Auswaschen in wenigen Minuten aufgehoben werden



konnte. Die Standardsubstanzen Chinidin und Quindonium waren hinsichtlich ihrer Affinität und Aktivität von mittlerer Wirksamkeit. Ibogamin war die Substanz mit der größten Aktivität, da sie nach der Enddosis von 100 μMol/l zu einem durchschnittlichen Frequenzabfall von 78$^0/_0$ führte, der von keiner anderen Substanz erreicht wurde (vgl. Abb. 5). Harmin hatte zwar die geringste EC_{20} und damit die größte Affinität zum Substrat, trotzdem überstieg die maximale Wirkung bei einer Dosis von 100 μMol/l nicht 46$^0/_0$; Harmin war deshalb der Stoff mit der geringsten Aktivität. Dies ist ein Beispiel dafür, daß Aktivität und Affinität zwei voneinander unabhängige Charakteristica einer Substanz sind.

Die Frage der cholinergen Natur der negativ chronotropen Wirkung in vitro prüften wir nur für Tabernanthin, Harmin und Methoxy-ETAI, von denen wir jeweils die doppelte EC_{20} anwandten. 10^{-7} g/ml Atropin, das die erhebliche Bradykardie nach 10^{-6} g/ml Acetylcholin vollständig verhinderte, hob die schwächeren Bradykardien nach diesen Indol-Derivaten nicht nur nicht auf, sondern verstärkte sie sogar. Die negativ chronotrope Wirkung dieser Stoffe in vitro ist also ebenfalls atropinresistent.

b) Inotrope Wirkungen. Die inotropen Wirkungen traten bei fast allen Substanzen nach höheren Konzentrationen auf als die chronotropen. Der Dosierungsbereich lag bei der Mehrzahl der Verbindungen zwischen 10 und 100 μMol/l und war damit gegenüber den Versuchen zur chronotropen Wirkung (1—100 μMol/l) erheblich eingeschränkt, so daß der Faktor, um den die Einzeldosen gesteigert wurden, verkleinert werden mußte. Dieser Faktor nahm Werte zwischen 1 und 2 an und wurde mit Hilfe von Vorversuchen für jede Substanz neu bestimmt, damit in allen Fällen 4—6 Einzeldosen kumulativ gegeben werden konnten. Die niedrigste Konzentration lag immer unterhalb derjenigen, die in den Vorversuchen die Amplitude der Vorhofsaktionen minimal verändert hatte. Folgende Erscheinungen erzwangen das Ende jedes Versuches: 1. das Unvermögen des Atriums, jeden elektrischen Impuls durch eine Kontraktion zu beantworten, und 2. die Auskristallisierung der Substanz (siehe auch die Versuche zur chronotropen Wirksamkeit).

Alle Substanzen außer Quindonium wirkten negativ inotrop und ergaben mit Ausnahme von Ibogalin immer lineare Beziehungen zwischen den Logarithmen der Dosen und der Wirkung. Es war daher möglich, Regressionsgeraden zu berechnen, deren Gleichungen sich in Tab. 6 finden. Einige extreme Beispiele zeigt Abb. 6: 1. Tabernanthin als aktivste Substanz, 2. Ibogamin als Substanz mit der größten Affinität, 3. Voacangin mit der am flachsten verlaufenden Regressionslinie, die aber noch einen statistisch sicher von der Abszisse verschiedenen Verlauf hat und damit eine Beziehung zwischen Dosis und Wirkung beweist. Quindonium

wirkte zwar erwartungsgemäß positiv inotrop, seine Regressionslinie unterscheidet sich jedoch in ihrem Verlauf nicht von der Abszisse und zeigt deshalb keine sichere Dosis-Wirkungsbeziehung an. Wie Abb. 6 und Tab. 6 zeigen, ergaben sich Dosis-Wirkungsgeraden mit unterschiedlicher Steilheit. Dieser Tatbestand der Nicht-Parallelität verbietet an

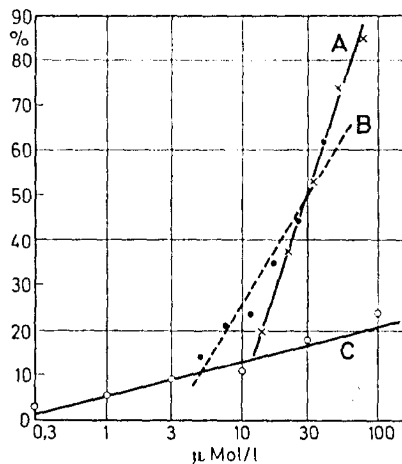


Abb. 6. Regressionslinien für die negativ inotropen Wirkungen von Tabernanthin (A; $n = 5$), Ibogamin (B; $n = 5$) und Voacangin (C; $n = 7$). Die Punkte sind die Mittelwerte der beobachteten Wirkungen. Abszisse (logarithmisch): Konzentration in µMol/l. Ordinate: Abnahme der Amplitude in Prozent des Ausgangswertes. Die Gleichungen der Geraden finden sich in Tab. 6

und für sich den quantitativen Vergleich von Isovoacangin, Conopharyngin, Voacangin und Chinidin mit den übrigen Substanzen. Trotzdem besteht das Bedürfnis nach Einordnung dieser Verbindungen unter quantitativen Gesichtspunkten; diese Einordnung, die allerdings nur für den Dosisbereich der EC_{20} gültig ist, findet sich in Tab. 6.

Die Affinität war bei Ibogamin und Tabernanthin am höchsten und bei Conopharyngin sowie ETAI am geringsten. Chinidin war wieder von mittlerer Affinität, zeigte jedoch (vgl. Tab. 6, Spalte 6) wie Voacangin und ETAI eine sehr schwache Aktivität. Die aktivste Substanz war Tabernanthin; auffallend war die hohe Aktivität von Voacristin, das in 3 von 5 Versuchen nach Dosen von 300 µMol/l die Herzkraft um mehr als 80% verminderte, ohne die Präparate sonst negativ zu beeinflussen. Außer diesen beiden Alkaloiden führten auch Ibogamin, Ibogain, Harman und Harmin zu einer mehr als 50%igen Hemmung der Herzkraft.

Für Ibogalin ergab sich in 6 Versuchen keine Dosis-Wirkungsbeziehung. Toxische Erscheinungen, die zum Abbruch des Versuches zwangen,

Tabelle 6. *Negativ inotrope Wirkung einiger Indol-Alkaloide und anderer Substanzen (im Falle von Quindonium positiv inotrope Wirkung) auf den isolierten, elektrisch gereizten linken Meerschweinchen-Vorhof*

Substanz	Regressionsgleichung[a]	Parallelität?	EC_{20} µMol/l	Vertrauensgrenzen für $P = 0,05$ µMol/l	Maximale Abnahme der Amplitude[b] %
Ibogamin	$y = 50,85x - 24,50$	ja	7,50	4,77 – 9,86	62
Ibogain	$y = 65,43x - 65,87$	ja	20,53	18,12 – 22,63	52
Tabernanthin	$y = 94,93x - 86,10$	*	13,11	10,42 – 15,47	85
Iboxygain	$y = 80,30x - 104,58$	ja	35,61	24,92 – 41,98	48
Isovoacangin	$y = 35,74x - 51,85$	nein	102,40	48,57 – 234,80	38
Conopharyngin	$y = 29,77x - 47,24$	nein	181,30	133,50 – 999,99	31
Voacristin	$y = 94,41x - 155,78$	ja	72,77	34,01 – 135,00	83
Voacangin	$y = 7,82x + 5,35$	nein	74,54	0,86 – 999,99	24
ETAI	$y = 54,63x - 105,05$	ja	194,50	151,80 – 284,40	27
Methoxy-ETAI	$y = 53,03x - 85,78$	ja	98,81	74,73 – 127,00	47
Harman	$y = 46,48x - 35,72$	ja	15,81	7,01 – 22,78	57
Harmin	$y = 82,94x - 86,75$	ja	19,36	17,18 – 21,38	76
Chinidin	$y = 11,02x + 2,23$	nein	40,96	14,85 – 588,20	29
Quindonium	$y = -3,00x - 13,62$	nein	134,90	0,01 – 999,99	**

[a] y: Abnahme der Amplitude in Prozent der Norm; x Logarithmus der Konzentration (µMol/l).
[b] Beobachtet nach der höchsten Dosis, die von dem Präparat toleriert wurde (Mittelwerte).
* Referenz-Linie.
** Die durchschnittliche maximale Zunahme der Amplitude betrug 21%.

traten bei sehr unterschiedlichen Endkonzentrationen ein, nämlich bei 27, 40, 60, 60, 100 und 130 μMol/l. Die maximalen inotropen Wirkungen schwankten erheblich und lagen zwischen −38 und +16%.

Diskussion

Die Resultate unserer Versuche in vivo und in vitro bedeuten in voller Übereinstimmung, daß die untersuchten Indol-Derivate ebenso wie Chinidin und Quindonium die Herzfrequenz durch einen *direkten nicht-cholinergen* Angriff am Sinusknoten vermindern.

Die starken Bradykardien des Meerschweinchens nach den Indol-Derivaten und Quindonium waren in den meisten Fällen nicht von Herzrhythmusstörungen oder wesentlichen EKG-Veränderungen begleitet. Dies deutet gleichfalls auf einen spezifischen Angriff am Sinusknoten hin und spricht *gegen eine chinidinähnliche* Wirkungsweise. Da die meisten Alkaloide die Reizleitung und -ausbreitung in Vorhof und Kammer des Herzens nicht generell hemmten und in mehreren Fällen angesichts der Bradykardie sogar relativ verkürzten (Tab. 4), kann auch in dieser Hinsicht ihr Wirkungscharakter nicht chinidinähnlich genannt werden. Von den Isochinuclidin-Derivaten wirkte nur Ibogamin verlängernd auf alle zeitlichen Parameter des EKG, Ibogain nur auf die Dauer von P. Ibogalin, Conopharyngin, Voacristin, Voacangin und Isovoacangin verlängerten die PQ-Distanz, Voacristin sogar mehr als Chinidin. Trotzdem zeigt Tab. 4, daß es sich hierbei um eine *isolierte Wirkung* auf das Reizleitungssystem und nicht um eine generelle Chinidin-ähnliche Hemmung handelt.

In ihrer starken, spezifisch hemmenden Wirkung auf den Sinusknoten ähneln die untersuchten Indol-Derivate den sekundären Alkaminen unter den Veratrum-Alkaloiden, deren Hauptvertreter Veratramin ist. Veratramin, das gleichfalls eine atropinresistente Bradykardie erzeugt (KRAYER, ARORA u. MEILMAN, 1955), kann wegen seiner zentral erregenden Nebenwirkungen nicht beim Menschen angewandt werden. Voraussichtlich dürfte dies auch für die hier untersuchten Alkaloide gelten, von denen viele zentral erregend wirken und bei nicht narkotisierten Mäusen einen Tremor hervorrufen (ZETLER, 1964).

Von den Isochinuclidin-Derivaten erzeugten die Iboga-Alkaloide (Nr. 1—5 in Tab. 1) am Meerschweinchen die stärksten Bradykardien. Dieser Befund deckt sich mit den an Katzen gewonnenen Ergebnissen (ZETLER, 1964). In unseren Versuchen war jedoch nicht wie bei der Katze Ibogalin, sondern Tabernanthin am aktivsten, Ibogalin besaß aber die längste Wirkungsdauer. Iboxygain, das an der Katze das zweitstärkste Alkaloid und wesentlich wirksamer als Tabernanthin war, erwies sich in unseren Versuchen als schwächster Vertreter der Iboga-Alkaloide. Die Ursache dieser Divergenzen ist uns nicht bekannt; auf Species-

unterschiede kann nicht ohne weiteres geschlossen werden, da die experimentelle Technik verschieden war.

Auf Grund von Versuchen an spontan schlagenden Vorhöfen war für das Voacanga-Alkaloid Voacangin eine digitalisähnliche kardiotonische Wirkung postuliert worden (LA BARRE u. GILLO, 1955a, b; LA BARRE, 1961). In unseren Versuchen am elektrisch gereizten isolierten Meerschweinchen-Vorhof wirkte Voacangin immer negativ inotrop. Für die Untersuchung der inotropen Wirkung ist das spontan schlagende Herz aber ein ungeeignetes Versuchsobjekt, da die Amplitude bei Tachykardie zu- und bei Bradykardie abnimmt (KRUTA, 1964; BLINKS u. KOCH-WESER 1961, 1964). Inotrope Wirkungen können deshalb mit Sicherheit nur an Präparaten erkannt werden, die mit konstanter Frequenz elektrisch gereizt werden. Demnach hätten LA BARRE u. GILLO (1955a, b) sowie LA BARRE (1961) eigentlich während der auch von ihnen registrierten Bradykardie eine Abnahme der Amplitude finden müssen. Sie fanden aber eine Zunahme, und diesen Befund können wir bestätigen, da in unseren Versuchen am spontan schlagenden Vorhof nach Voacangin trotz Bradykardien von 20—40% die Amplitude um etwa 15% zunahm; eine befriedigende Abhängigkeit dieser Erscheinung von der Dosis war nicht vorhanden. Dieses Phänomen fand sich auch bei den Iboga-Alkaloiden mindestens insofern, als sich trotz Bradykardie die Amplitude nicht verringerte und bei einigen Substanzen sogar anstieg. So zeigten mehrere Präparate unter dem Einfluß von Tabernanthin während einer Frequenzabnahme um etwa 40% eine Zunahme der Amplitude um etwa 22%. Diese Beobachtungen ließen eine hinter dem Einfluß der Bradykardie versteckte positiv inotrope Wirkung vermuten, eine solche Wirkung trat jedoch in den entscheidenden Versuchen am elektrisch gereizten Vorhof nicht zutage; dies bestätigt die gleichfalls negativen Beobachtungen von BLANPIN, QUEVAUVILLER u. PONTUS (1961) am isolierten Vorhof des Kaninchens sowie von THORP u. COBBIN (1967) am isolierten Vorhof des Meerschweinchens und am Papillarmuskel der Katze.

Die Ergebnisse der Versuche in vitro ergaben, daß alle Substanzen eine viel größere Affinität zum Sinusknoten als zum übrigen Myokard haben. Die Werte dieser „spezifischen Affinität" (Quotient aus inotroper und chronotroper EC_{20}) finden sich in Tab. 7 und Tab. 8, für Chinidin gilt 146 und für Quindonium 228. Die spezifische Affinität zum Sinusknoten ist somit bei Harmin, Methoxy-ETAI, Isovoacangin und Voacristin mindestens doppelt so stark wie bei Chinidin.

Unsere Versuche ergaben eindeutige Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung. Die Einführung der Methoxy-Gruppe in den Indol-Anteil der Moleküle führte in vivo und in vitro zu einer Zunahme der negativ chronotropen Wirksamkeit

Tabelle 7. *Einfluß der Substituierung durch eine Methoxygruppe auf die pharmakologische Aktivität einiger Indol-Derivate*

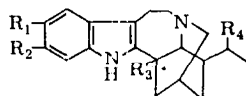
Substanz	R_1	R_2	narkotisiertes Meerschweinchen: Bradykardie ED_{20} µMol/kg	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: negative Chronotropie EC_{20} µMol/l	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: negative Inotropie EC_{20} µMol/l	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: spezifische Affinität zum Sinusknoten[a]
Ibogamin	H	H	9,0	1,03	7,5	7
Ibogain	OCH_3	H	6,6	0,54	20,5	38
Tabernanthin	H	OCH_3	2,3	0,10	13,1	138
ETAI	H	H	45,8	3,1	194,5	62
Methoxy-ETAI	H	OCH_3	18,8	0,24	98,8	407
Harman	H	H	5,6	0,23	15,8	70
Harmin	H	OCH_3	0,6	0,06	19,4	298

[a] Verhältnis der EC_{20} der inotropen Wirkung zur EC_{20} der chronotropen Wirkung.

(Tab. 7). Im Gegensatz dazu änderte sich die negativ inotrope Wirksamkeit nicht wesentlich, so daß die spezifische Affinität zum Sinusknoten durch die Substitution der Substanzen ganz erheblich anstieg. Der Ort der Substitution ist gleichfalls wichtig; wie Tabernanthin zeigt, ist eine Methoxy-Gruppe als R_2 besonders wirksam. Da die Einführung einer zweiten Methoxy-Gruppe (Ibogalin) die Wirksamkeit nicht weiter erhöhte, sondern wieder verminderte, wobei die toxische Wirkung auf das Myokard in vitro zunahm, hat von den Apocynaceen-Alkaloiden Tabernanthin die optimale Struktur. Die Einfügung der $COOCH_3$-Gruppe in den Isochinuclidin-Ring der Apocynaceen-Alkaloide verminderte die negativ chronotrope Wirksamkeit in vivo viel stärker als in vitro (Tab. 8). Ein möglicher Grund dafür ist, daß diese Substitution die für Resorption, Verteilung und Abbau wichtigen Eigenschaften veränderte. In der Tat führt die $COOCH_3$-Gruppe zu einer beträchtlichen Verminderung der Basizität, nämlich zu einer Abnahme des pK_{MCS}-Wertes von etwa 7,6 auf etwa 5,6 (RENNER, 1966). Die negativ inotrope Wirksamkeit in vitro wurde durch diese Veränderung der Moleküle wesentlich stärker vermindert als die negativ chronotrope; dadurch kam es zu einer erheblichen Zunahme der spezifischen Aktivität zum Sinusknoten.

Pharmakologisch aktive Moleküle können für die Aktivität kritische und nicht-kritische Strukturelemente enthalten (SIMONIS u. ARIËNS, 1967). Da auch die Azepino-Indole und die Harmala-Alkaloide in unseren

Tabelle 8. *Einfluß der $COOCH_3$-Gruppe im Isochinuclidin-Ring auf die pharmakologische Aktivität der Apocynaceen-Alkaloide*

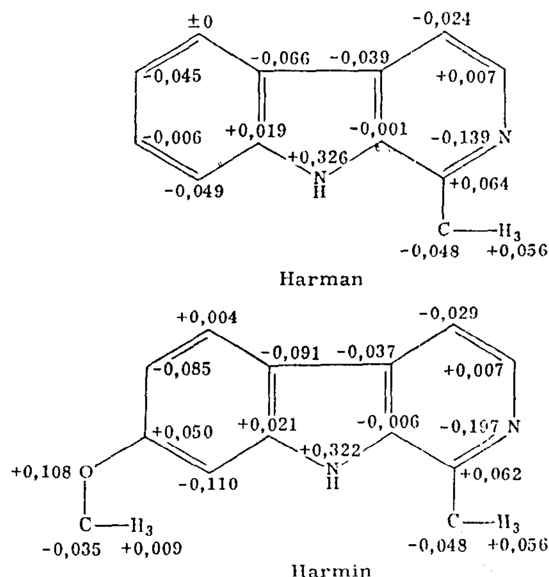


Substanz	R_1	R_2	R_3	R_4	narkotisiertes Meerschweinchen: Bradykardie ED_{20} µMol/kg	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: negative Chronotropie EC_{20} µMol/l	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: negative Inotropie EC_{20} µMol/l	isolierter Meerschweinchen-Vorhof: spezifische Affinität zum Sinusknoten [a]
Ibogain	OCH_3	H	H	H	6,6	0,54	20,5	38
Voacangin	OCH_3	H	$COOCH_3$	H	36,9	0,5	74,5	149
Tabernanthin	H	OCH_3	H	H	2,3	0,1	13,1	138
Isovoacangin	H	OCH_3	$COOCH_3$	H	51,6	0,31	102,4	326
Ibogalin	OCH_3	OCH_3	H	H	3,4	0,17	—	—
Conopharyngin	OCH_3	OCH_3	$COOCH_3$	H	57,8	4,93	181,3	37
Iboxygain	OCH_3	H	H	OH	16,2	0,75	35,6	47
Voacristin	OCH_3	H	$COOCH_3$	OH	36,6	0,17	72,8	428

[a] Verhältnis der EC_{20} der inotropen Wirkung zur EC_{20} der chronotropen Wirkung.

Versuchen gut wirksam waren, ist die Kompliziertheit des Isochinuclidin-Ringes der Apocynaceen-Alkaloide nicht kritisch. Durch die Methoxylierung des Indol-Anteils änderte sich die Wirkung auf den Sinusknoten viel stärker als diejenige auf das Arbeitsmyokard, die ihrerseits durch die $COOCH_3$-Gruppe im Isochinolin-Ring bevorzugt vermindert wurde. Für verschiedene kardiale Substrate sind somit verschiedene Anteile des Moleküls der Apocynaceen-Alkaloide kritisch, nämlich für die negativ chronotrope Wirksamkeit die Indol-Struktur und für die negativ inotrope die Isochinuclidin-Struktur. Diese Feststellung führt zu der Annahme, daß sich die Pharmakon-Receptoren im Sinusknoten von denen im übrigen Myokard unterscheiden. Zu derselben Schlußfolgerung, allerdings für Tyramin-Receptoren, kamen kürzlich Varma u. Ayitey-Smith (1967) auf Grund von Versuchen über den Einfluß der Immunosympathektomie auf die positiv ino- und chronotrope Tyramin-Wirkung. Wir halten es ferner für möglich, daß im Reizleitungssystem eine dritte Gruppe von Receptoren existiert, über die die chinidinähnliche hemmende Wirkung zustande kommt. Denn wie Tab. 4 zeigt, bewirkte die für die Affinität zum Sinusknoten so wichtige Methoxylierung des Indol-Teiles von Ibogamin über Ibogain zu Tabernanthin ein Verschwinden der chinidinähnlichen Hemmung der Reizleitung, ferner war andererseits die $COOCH_3$-Gruppe im Isochinuclidin-Ring in dieser Hinsicht ohne Bedeutung.

Der Grund für den starken Einfluß der Methoxy-Gruppe in dem Indol-Teil der Moleküle auf die pharmakologische Wirksamkeit dürfte in der Veränderung der Ladungsverteilung auf diesem kritischen Strukturelement liegen. Die Berechnung der Nettoladungen von Harman und Harmin nach der Hückel-Molekular-Orbitalmethode (PULLMANN u. PULLMANN, 1963) liefert dafür ein Beispiel[1]:



Harman

Harmin

Durch die Substitution wird die Ladungsverteilung charakteristischer, das substituierte Molekül „paßt" deshalb vielleicht besser zum Receptor. Die besonders im Vergleich zu den Azepino-Indolen hohe Wirksamkeit des Harmans und Harmins könnte darauf beruhen, daß diese Moleküle voll aromatisch sind. Ihr geometrisches Verhalten muß deshalb starr und flach sein, was van der Waalssche Bindungen an einen flachen Receptor in großer Zahl möglich macht. Die $COOCH_3$-Gruppe kann auf doppelte Weise die Bindung an einen Receptor abschwächen: einmal durch sterische Behinderung, da sie mit einem Winkel von etwa 90° aus der Ebene des Indol-Kerns herausragt, ferner durch Verminderung der Basizität, wodurch die Verfügbarkeit des freien Elektronenpaares am Isochinuclidin-Stickstoff abnimmt.

Literatur

ARIËNS, E. J.: Molecular pharmacology I. New York: Academic Press 1964.

BLANPIN, O,. A. QUEVAUVILLER et C. PONTUS: Sur la voacangine, alcaloide du Voacanga africana-Stapf-Apocynacées. Thérapie 16, 941—945 (1961).

[1] Wir danken Herrn Dr. O. WASSERMANN (Institut für Pharmakologie der Universität Kiel) sehr herzlich für die Berechnung und die Erlaubnis zur Publikation.

Blinks, J. R., and J. Koch-Weser: Analysis of the effects of changes in rate and rhythm upon myocardial contractility. J. Pharmacol. exp. Ther. **134**, 373—389 (1961).
— — Descriptive analysis of the interval-strength relationship of heart muscle. In: Proc. Second Int. Pharmacol. Meeting 5: Pharmacology of Cardiac Function, pp. 53—62. Ed. O. Krayer. Prag: Czechoslovak Medical Press 1964.
Grauwiler, J.: Herz und Kreislauf der Säugetiere. Experientia (Basel) Suppl. 10 1965.
Krayer, O., R. B. Arora, and E. Meilman: Studies on veratrum alkaloids. XXI. The action of veratramine upon impulse generation in the dog heart. J. Pharmacol. exp. Ther. **113**, 446—459 (1955).
Kruta, V.: Importance of the interval-strength relationship for the evaluation of cardiac inotropic effects of drugs. In: Proc. Second Int. Pharmacol. Meeting 5: Pharmacology of Cardiac Function, pp. 45—52. Ed. O. Krayer. Prag: Czechoslovak Medical Press 1964.
La Barre, J.: Les alcaloides cardiotoniques. Actualités pharmacol. 14, 109—124 (1961).
—, et L. Gillo: A propos des propriétés cardiotoniques de la voacangine et de la voacanginine. Bull. Acad. roy. Méd. Belg. **20**, 194—217 (1955a).
— — A propos de l'action cardiotonique et de la toxicité de deux alcaloides extraits du Voacangua africana. C. R. Soc. Biol. (Paris) **149**, 1075—1077 (1955b).
Linder, A.: Statistische Methoden, 4. Aufl. Basel-Stuttgart: Birkhäuser 1964.
Osborne, M. W., and M. M. Winbury: Quindonium bromide — Some aspects of the cardiovascular pharmacology. J. Pharmacol. exp. Ther. **147**, 212—224 (1965).
Pullmann, B., and A. Pullmann: Quantum Biochemistry. New York-London: Interscience Publishers 1963.
Renner, U.: Persönl. Mitteilung (1966).
Schneider, J. A., and R. V. Rinehart: Analysis of the cardiovascular action of ibogaine hydrochloride. Arch. int. Pharmacodyn. **110**, 92—102 (1957).
Scriabine, A., and D. E. Hutcheon: Experimental ventricular arrhythmias following harman methosulfate. J. Pharmacol. exp. Ther. **118**, 239—247 (1956).
Simonis, A. M., and E. J. Ariëns: Kritische und nicht-kritische Struktur-Elemente in Pharmaka. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. **257**, 65—66 (1967).
Thorp, R. H., and L. B. Cobbin: Cardiac stimulant substances. New York-London: Academic Press 1967.
Varma, D. R., and E. Ayitey-Smith: Effect of tyramine on the atrium and the papillary muscle of the immunosympathectomized rat. J. Pharm. Pharmacol. **19**, 557—559 (1967).
Zeman, F. J., and C. G. Wilber: Some characteristics of the guinea pig electrocardiogram. Life Sci. **4**, 2269—2274 (1965).
Zetler, G.: Einige pharmakologische Eigenschaften von 12 natürlichen und 11 partialsynthetisch abgewandelten Indol-Alkaloiden aus tropischen Apocynaceen des Subtribus Tabernaemontaninae. Arzneimittel-Forsch. **14**, 1277—1286 (1964).

Prof. Dr. G. Zetler
Institut für Pharmakologie
Medizinische Akademie Lübeck
2400 Lübeck, Ratzeburger Allee 160